



⑯ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑯ Offenlegungsschrift
⑯ DE 42 27 323 A 1

⑯ Int. Cl. 5:
G 01 N 35/00
G 01 N 27/28
G 01 N 1/20
G 01 N 27/327
G 01 D 3/04
G 05 D 23/00
G 01 N 21/05
// G 01 N 33/49

⑯ Anmelder:
EKF Industrie Elektronik GmbH, 39114 Magdeburg,
DE
⑯ Vertreter:
Bolschakow, J., Hochschuling. Faching.f.
Schutzrechtsw., Pat.-Anw., 39128 Magdeburg

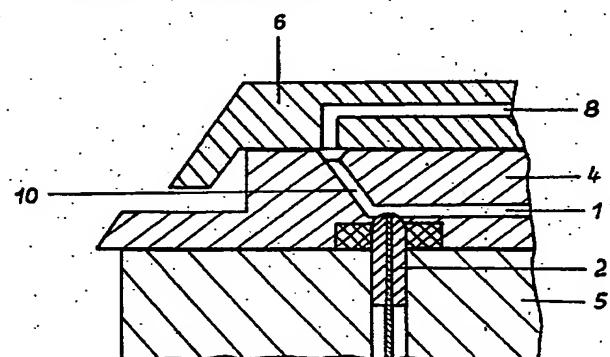
⑯ Erfinder:
Aßmann, Frank, Dipl.-Ing., 39112 Magdeburg, DE;
Walter, Berthold, Dipl.-Ing., 39114 Magdeburg, DE;
Borlich, Steffen, Dipl.-Ing., 39116 Magdeburg, DE

⑯ Halbautomatisches Verfahren und Durchflußmeßanordnung zur Analyse von Flüssigkeiten

⑯ Bekannte Verfahren und Durchflußmeßanordnungen benötigen insbesondere zur Analyse von Flüssigkeiten im medizinischen Bereich größere Mengen der zu analysierenden Flüssigkeit oder erreichen keine reproduzierbaren Meßergebnisse. Durch die Erfindung sollen auch nach mehreren Meßzyklen reproduzierbare Meßergebnisse erreicht werden sowie Vorortmessungen auch für den allgemeinen Gebrauch möglich sein.

Die Meßflüssigkeit wird zu einem beliebigen Zeitpunkt nach Beginn des Absaugens der im Durchflußkanal (1) befindlichen Reinigungs- und/oder Pufferlösung und des gleichzeitigen Ansaugens von Luft der Durchflußmeßanordnung manuell zugeführt und passiert den bzw. die am Durchflußkanal (1) angeordneten Biosensoren (2) in jedem Zyklus unter konstanten Fließbedingungen. Die Durchflußmeßanordnung ist innerhalb eines Handgerätes angeordnet und weist eine Sensoreinheit mit einem aufklappbaren Verschlußteil (6), einem Ansaugkanal (10) und einem im Verschlußteil (6) angeordneten Zuführkanal (8).

Die Erfindung dient der Analyse von Flüssigkeiten im medizinisch-technischen Bereich und bei der Wasser- und Abwasserbehandlung, wofür bereits kleinste Flüssigkeitsmengen ausreichend sind.



DE 42 27 323 A 1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

BUNDESDRUCKEREI 12.93 308 068/163

10/53

Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein halbautomatisches Verfahren und eine Durchflußmeßanordnung zur Analyse von Flüssigkeiten im medizinisch-technischen Bereich, bei der Wasser- und Abwasserbehandlung in Industrie und Forschung und bei Verfahren unter Verwendung von Flüssigkeiten vorgeschriebener Zusammensetzung oder Reinheit in der chemischen und Nahrungsmittelindustrie, wobei bereits kleinste Flüssigkeitsmengen für die Analyse ausreichend sind.

Aus der DD-PS 228 357 ist ein Verfahren und ein Durchflußanalysator zur Analyse einer verdünnten Meßprobenflüssigkeit bekannt. Dabei ist von Nachteil, daß nur jeweils zwei Meßzyklen nacheinander ablaufen können, wonach eine aufwendige mehrstufige Eichung mit mehreren Bezugslösungen erfolgen muß und eine Einlaufzeit von mindestens einer Stunde vor Beginn der nächsten zwei Meßzyklen notwendig ist. Weiterhin kann immer nur ein Bestandteil der verdünnten Meßprobenflüssigkeit in einem Meßzyklus gemessen werden, was für die Bestimmung mehrerer verschiedener Bestandteile der Meßprobenflüssigkeit von wesentlichem Nachteil ist. Nachteilig ist auch die Verwendung verdünnter Meßprobenflüssigkeit, was die Gefahr von Meßfehlern durch Verunreinigungen vergrößert. Die Zuführung der Meßprobenflüssigkeit in den Durchflußkanal mittels einer Spritze und Schlauchventilen, welche durch eine Exzenter scheibe gesteuert werden, läßt eine Verwendung für geringste Flüssigkeitsmengen nicht zu, da die Betätigung der Schlauchventile durch die Exzenter scheibe keine genaue Dosierung der Meßprobenflüssigkeit ermöglicht. Für allgemeinen Gebrauch ist das Verfahren wegen seiner aufwendigen Vorbereitung und Handhabung, einschließlich Aufbereitung einer verdünnten Meßlösung, nicht geeignet. Aus den DD-PS 248 436 und 278 870 ist je eine Durchflußmeßzelle bekannt, welche eine zylindrische Elektrodenkammer mit einer darin angeordneten Membranelektrode aufweist. Durch Absenkung oder Anhebung eines Probenansaugrohres wird entweder Meßflüssigkeit oder Spülflüssigkeit in die Mikromeßkammer angesaugt, wobei in der Zwischenstellung Luft angesaugt wird. Die Abhängigkeit des Meßergebnisses von der Temperatur der Meßflüssigkeit wird durch elektronische Temperaturkompensation oder Temperierung der Meßflüssigkeit berücksichtigt. Aufgrund der geometrischen Form der Mikromeßkammer und der Anordnung der Einlaß- und Auslaßöffnung in senkrechter Richtung zum Kopf der Membranelektrode entstehen in der Mikromeßkammer Verwirbelungen, Stauräume und diskontinuierliche Flüsse über der Membranelektrode, welche den Meßvorgang undefinierbar nachteilig beeinflussen sowie das Festsetzen von Meßflüssigkeitsrückständen ermöglichen, welche durch den Spülvorgang nicht beseitigt werden können. In der Folge führt das zu keinen reproduzierbaren Meßergebnissen, so daß die beschriebene Anordnung für halbautomatische oder automatische Analysemeßverfahren ungeeignet ist. Auch die vertikale Bewegung des Probenansaugrohres stellt eine weitere Fehlerquelle dar. Das Bestimmen mehrerer Bestandteile der Meßprobenflüssigkeit ist mit der beschriebenen konstruktiven Anordnung der Durchflußmeßzelle ebenfalls nicht möglich.

Aus der DE-OS 34 16 956 ist eine Meßvorrichtung mit einem mehreren ionensensitiven Elektroden und einem Durchflußkanal aufweisenden Elektrodenblock bekannt. Nachteilig bei der Verwendung von ionensensiti-

ven Elektroden ist die erforderliche Kalibrierung nach jeder Messung, so daß eine größere Menge an Kalibrierflüssigkeit vorhanden sein muß, sowie die ebenfalls notwendigen verschiedenen Elektrolytflüssigkeiten für die Analyse der unterschiedlichen Bestandteile der Meßflüssigkeit, was den konstruktiven Aufwand der Meßvorrichtung erhöht. Die verschiedenen Bestandteile der Meßprobenflüssigkeit werden durch eine Parallelmessung an den Elektroden am Durchflußkanal bestimmt, wobei der Durchflußkanal vollständig mit Meßflüssigkeit ausgefüllt sein muß und somit mehrere hundert Mikroliter Meßflüssigkeit erforderlich sind. Weiterhin von Nachteil ist der Aufwand an zusätzlichen Sensoren zur Positionsbestimmung der Meßprobenflüssigkeit bzw. Kalibrierlösungen innerhalb der Meßvorrichtung. Aufgrund der benötigten größeren Mengen an Meßflüssigkeit ist eine Verwendung der beschriebenen Meßvorrichtung für medizinische Vorortmessungen, insbesondere zur Analyse von Vollblut, nicht geeignet.

Aus der US-PS 4,759,828 ist eine in einer Durchflußmeßzelle angeordnete, membranbedeckte Enzymelektrode zur Messung von Glukose in Vollblut bekannt. Zur Zu- und Abführung des Vollbluts, Luft und reinigender Pufferlösung besitzt die Durchflußmeßzelle einen Einlaß- und Auslaßkanal, welche dem Kopf der Enzymelektrode schräg gegenüber angeordnet sind. Aufgrund der geometrischen Anordnung der Enzymelektrode zu Einlaß- und Auslaßkanal entstehen in der Durchflußmeßzelle Verwirbelungen, Stauräume und diskontinuierliche Flüsse über der Enzymelektrode, welche den Meßvorgang undefinierbar nachteilig beeinflussen sowie das Festsetzen von Blutrückständen in der Durchflußmeßzelle ermöglichen, welche durch den Spülvorgang nicht beseitigt werden können. In der Folge führt das zu wenig reproduzierbaren Meßergebnissen, so daß diese Durchflußmeßzelle für halbautomatische oder automatische Analysemeßverfahren ungeeignet ist. Weiterhin ist mit dieser Durchflußmeßzelle nur ein Bestandteil der Blutprobe bestimmbar. Nachteilig ist die für die Messung benötigte Menge von bis zu 100 µl Vollblut. Das in der US-PS 4,759,828 vorgeschlagene Meßverfahren mit Messung des Stromwertes der Enzymelektrode zu einer vorgegebenen Festzeit und Vergleich mit den Meßwerten einer Standardlösung mit bekannter Glukosekonzentration ist sehr problematisch, da bereits geringfügige Änderungen der Umgebungsbedingungen, der Fließeigenschaften des Blutes bzw. des Durchflusses innerhalb der gesamten Meßanordnung zu fehlerhaften Meßergebnissen führen. Auch zur Berücksichtigung des Temperatureinflusses auf das Meßergebnis werden in der US-PS 4,759,828 keine Maßnahmen genannt. Aus der PCT-Schrift WO 89/09396 ist eine weitere Durchflußmeßanordnung mit an einem Durchflußkanal angeordneten ionensensitiven Elektroden bekannt. Dabei ist die Oberfläche der Elektrodenköpfe auf gleicher Ebene mit der inneren Wand des Durchflußkanals angeordnet, was einen ungehinderten Fluß durch den Durchflußkanal gewährleisten soll. Der Nachteil einer solchen Anordnung ist, daß sie für eine Messung mit membranbedeckten Enzymelektroden nicht verwendbar ist, da die erforderliche Umspülung des Kopfes der Enzymelektrode mit der Meßflüssigkeit nicht möglich ist. Nachteilig ist weiterhin, wie schon bei der DE-OS 34 16 956 genannt, die erforderliche Kalibrierung nach jeder Messung, so daß eine größere Menge an Kalibrierflüssigkeit vorhanden sein muß. Auch wird eine größere Menge an Meßflüssigkeit benötigt, so daß die Meßanordnung nach der WO 89/09396 für Vorortmessungen, insbeson-

dere zur Analyse von Vollblut, nicht geeignet ist. Zur Berücksichtigung des Temperatureinflusses auf das Meßergebnis werden in der WO 89/09396 keine Maßnahmen genannt.

Aufgabe der Erfindung ist es, ein halbautomatisches Verfahren und eine Durchflußmeßanordnung zur Analyse von Flüssigkeiten zu schaffen, wobei bereits geringste Flüssigkeitsmengen (maximal ein Tropfen) ausreichend sind, um die Bestandteile der zu analysierenden Flüssigkeit mit hoher Genauigkeit, insbesondere bei medizinischer Anwendung, zu bestimmen. Bekannterweise stehen zur Analyse von Flüssigkeiten vor allem im medizinischtechnischen Bereich nur geringe Mengen der zu analysierenden Flüssigkeit zur Verfügung. Insbesondere bei der Analyse von Vollblut besteht das Problem, daß häufig nur ein Tropfen für die Analyse ausreichen muß, um die Belastungen für den Menschen so gering wie möglich zu halten. Durch die Erfindung sollen reproduzierbare Meßergebnisse auch nach mehreren Meßzyklen und die Bestimmung mehrerer Bestandteile der zu analysierenden Flüssigkeit in einer Meßprobe möglich sein. Es soll eine Analyse vor Ort möglich sein, um unmittelbare und unverfälschte Meßergebnisse zu erhalten. Zur Vermeidung von zusätzlichen Fehlern sollen zur Analyse unverdünnte bzw. keine speziell aufbereiteten Flüssigkeiten verwendet werden. Weiterhin soll eine einfache Handhabung der Durchflußmeßanordnung für den allgemeinen Gebrauch möglich sein.

Die Aufgabe der Erfindung wird gemäß den Verfahrensmerkmalen im Anspruch 1 und den kennzeichnenden Merkmalen der Durchflußmeßanordnung im Anspruch 6 gelöst. Vorteilhafte Ausbildungen der Erfindung sind in den Unteransprüchen aufgeführt.

Die Erfindung soll anhand eines Ausführungsbeispiels nachfolgend näher erläutert werden. Dabei zeigen

Fig. 1 eine schematische Schnittdarstellung durch einen Teil der Durchflußmeßanordnung mit Meßprobenkanüle,

Fig. 2a bis 2c einen vergrößerten Ausschnitt des Durchflußkanals als Längs- bzw. Querschnitt mit dem Kopf des Biosensors,

Fig. 3 einen schematischen Teilschnitt durch die Sensoreinheit.

Das Ausführungsbeispiel wird der Einfachheit halber unter Verwendung eines am Durchflußkanal angeordneten Biosensors beschrieben und nur an unbedingt notwendigen Stellen auf mehrere Biosensoren Bezug genommen.

Gemäß dem erfindungsgemäßen Verfahren werden im Zustand der Meßbereitschaft der Durchflußmeßanordnung die Reinigungs- und/oder Pufferlösung aus dem Durchflußkanal selbsttätig abgesaugt und gleichzeitig Luft sowie nachfolgend die Meßflüssigkeit wiederum gefolgt von Luft in den Durchflußkanal selbsttätig angesaugt. Zum Erhalt reproduzierbarer Meßergebnisse durchfließt die Meßflüssigkeit den Durchflußkanal in jedem Zyklus unter konstanten Fließbedingungen. Zu diesem Zweck passiert die Meßflüssigkeit den Biosensor mit in jedem Zyklus konstanter Fließgeschwindigkeit, wobei der entsprechende Bestandteil der Meßflüssigkeit bereits mit hoher Genauigkeit und Reproduzierbarkeit bestimmt werden kann. Vorteilhafterweise wird zur Berücksichtigung der Abhängigkeit des Meßergebnisses von der Temperatur der Meßflüssigkeit in jedem Zyklus die Umgebungstemperatur gemessen, bevor die Meßflüssigkeit den Biosensor passiert. Dabei kann davon ausgegangen werden, daß die Temperatur der Meßflüssigkeit der Umgebungstemperatur entspricht. Ent-

sprechend der gemessenen Umgebungstemperatur und aufgrund der bekannten Abhängigkeit des Meßergebnisses von der Temperatur der Meßflüssigkeit wird die Stromverstärkung am Biosensor in jedem Zyklus eingestellt.

Die Meßflüssigkeit wird erfindungsgemäß zu einem beliebigen Zeitpunkt nach Beginn des Absaugens der im Durchflußkanal befindlichen Reinigungs- und/oder Pufferlösung und des gleichzeitigen Ansaugens von Luft der Durchflußmeßanordnung manuell zugeführt. Nach dem Erhalt des Meßergebnisses wird die Meßbereitschaft der Durchflußmeßanordnung erfindungsgemäß wieder hergestellt, indem der Durchflußkanal und alle von der Meßflüssigkeit durchflossenen Kanäle innerhalb der Durchflußmeßanordnung solange mittels der Reinigungs- und/oder Pufferlösung selbsttätig gereinigt werden, bis der am Biosensor gemessene Strom einen vorgegebenen Stromwert erreicht hat. Die Auslösung des Reinigungsvorganges erfolgt manuell durch den Bediener, der Reinigungsvorgang selbst läuft selbsttätig ab. Aufgrund der konstanten Fließgeschwindigkeit der Meßflüssigkeit beim Durchfließen des Durchflußkanals und der halbautomatischen Verfahrensdurchführung werden keine zusätzlichen Sensoren zur Überwachung des Standortes der Meßflüssigkeit innerhalb der Durchflußmeßanordnung benötigt. Von Vorteil bei der Messung mehrerer Bestandteile der Meßflüssigkeit ist, daß die Meßflüssigkeit beim Durchfließen des Durchflußkanals einen Teilabschnitt des Durchflußkanals ausfüllen kann. Dabei können mit einer in Reihe an einem längeren Durchflußkanal angeordneten Anzahl an Biosensoren eine entsprechende Anzahl an Bestandteilen der Meßflüssigkeit bestimmt werden. Somit ist es möglich, daß auch bei einem längeren Durchflußkanal keine größere Menge der Meßflüssigkeit benötigt wird, als bei einem Durchflußkanal mit einem Biosensor. Für eine Analyse von z. B. Vollblut als Meßflüssigkeit ist eine Menge von 10 µl völlig ausreichend und unabhängig von der Anzahl der zu bestimmenden Bestandteile der Meßflüssigkeit. Mehrere zu bestimmende Bestandteile von Vollblut können z. B. Glucose, Lactat, Cholesterin oder Harnstoff sein.

Zur Bestimmung des entsprechenden Bestandteils der Meßflüssigkeit beim Passieren des Biosensors wird vorteilhafterweise ein dynamisches Meßverfahren mit mathematischer Auswertung angewendet, was eine hohe Meßsicherheit garantiert. Dabei wird der Strom des Biosensors differentiell gemessen und daraus durch Bildung der ersten Ableitung der bekannten Strom-Zeit-Funktion des jeweiligen Biosensors der steilste Anstieg des Stroms ermittelt. Durch Bildung der zweiten Ableitung der Strom-Zeit-Funktion wird der dazugehörige Wendepunkt ermittelt. Der Wert des Stroms am Wendepunkt stellt dessen Maximalwert dar und ist gleichzeitig der Meßwert. Der ermittelte Meßwert wird, wie allgemein üblich, in eine Maßeinheit für den jeweils bestimmten Bestandteil der Meßflüssigkeit umgerechnet, wie z. B. in mmol/l oder mg/dl. Die Meßzeit von Beginn des Ansaugens der Meßflüssigkeit bis zum Erhalt des Meßergebnisses beträgt z. B. für eine Analyse von Vollblut mit einem Biosensor weniger als 10 Sekunden.

Die Meßbereitschaft der Durchflußmeßanordnung ist wieder hergestellt, sobald am Biosensor während des Reinigungsvorganges ein vorgegebener Stromwert gemessen wurde. Der vorgegebene Stromwert ist sensor-spezifisch abhängig von der Art des verwendeten Biosensors, den zu analysierenden Bestandteilen der Meßflüssigkeit sowie seiner Betriebsdauer und wird vor-

zugsweise nach jedem Zyklus neu festgelegt. Dazu wird der Durchflußkanal solange mittels der Reinigungs- und/oder Pufferlösung gereinigt, bis der am Biosensor gemessene Strom einen konstanten Wert angenommen hat. Nach einer Fehlerüberprüfung, ob der zuletzt gemessene Strom unter Berücksichtigung des vorgegebenen Stromwertes aus dem vorhergehenden Zyklus innerhalb bestimmter Toleranzgrenzen liegt, wird der zuletzt gemessene Strom zum neuen vorgegebenen Stromwert für den nächsten Zyklus bestimmt. Werden bei der Fehlerüberprüfung die Toleranzgrenzen überschritten, wird der Reinigungsvorgang für eine bestimmte Zeitspanne fortgesetzt und versucht mit dem Strom noch in den Toleranzbereich zu kommen oder es wird ein irreversibler Fehler am Biosensor diagnostiziert. Wenn es auch innerhalb der zuletzt genannten Zeitspanne nicht gelingt mit dem Strom des Biosensors in den Toleranzbereich zu kommen, liegt ein irreversibler Fehler am Biosensor vor und dieser oder die Biomembran müssen ausgewechselt werden.

In einer vereinfachten Variante des Reinigungsvorganges kann auf eine Strommessung während der Reinigung des Durchflußkanals verzichtet werden. Der Durchflußkanal, einschließlich anderer von der Meßflüssigkeit durchflossenen Kanäle innerhalb der Durchflußmeßanordnung, werden in dieser vereinfachten Variante für die Dauer einer vorherbestimmten Zeitspanne gereinigt. Die Dauer dieser Zeitspanne kann z. B. experimentell mittels Vergleichsmessungen bei verschiedenen Zeitspannen für den Reinigungsvorgang ermittelt werden, so daß durch die festgelegte Zeitspanne eine ausreichende Reinigung des Durchflußkanals gewährleistet ist.

Beginnt innerhalb eines vorher festgelegten Zeitraums, nachdem die Durchflußmeßanordnung den Zustand der Meßbereitschaft erreicht hat, kein neuer Zyklus, gelangt die Durchflußmeßanordnung automatisch in einen Ruhezustand. Im Ruhezustand wird der Energieverbrauch auf ein Minimum reduziert und nur der Biosensor mit einer Betriebsspannung versorgt. Nach Ende des Ruhezustandes, dessen Zeitpunkt durch den Bediener bestimmt wird, erfolgt vor Beginn eines neuen Zyklus eine Überprüfung der Meßbereitschaft der Durchflußmeßanordnung und in Abhängigkeit von den Umgebungsbedingungen, der gewünschten Meßgenauigkeit oder der vergangenen Zeit seit einer vorhergehenden Kalibrierung wird vorteilhafterweise der Biosensor mittels einer in den Durchflußkanal angesaugten und diesen durchfließenden Standardlösung neu kalibriert.

Umgebungsbedingungen, die eine Kalibrierung notwendig machen, können z. B. große Temperaturunterschiede zwischen verschiedenen Meßorten sein. Zum Erhalt von Meßergebnissen hoher Genauigkeit sollte ebenfalls vor Beginn eines neuen Zyklus nach einem Ruhezustand oder nach einer Mehrzahl von Messungen eine Kalibrierung vorgenommen werden. Auch bei größeren Zeitabständen zwischen den Zyklen, z. B. wenn nur einmal am Tage eine Messung erfolgt oder eine entsprechende Zeit seit der vorhergehenden Kalibrierung vergangen ist, macht sich eine Kalibrierung notwendig. Eine Kalibrierung von Biosensoren ist bekannterweise erforderlich, da sich mit der Dauer des Gebrauchs des jeweiligen Biosensors oder starken Temperaturschwankungen dessen Empfindlichkeit ändert. Das heißt aufgrund des natürlichen Alterungsprozesses des für Biosensoren verwendeten biologischen Materials verflacht die Stromkurve des Biosensors bzw. ver-

schiebt sich bei starken Temperaturschwankungen. Es muß daher in bestimmten Zeitabständen eine Kalibrierung des Biosensors mittels einer Standardlösung erfolgen, wobei das betreffende biologische Material reagiert und die Stromkurve des Biosensors wieder angehoben bzw. den veränderten Temperaturbedingungen angepaßt wird. Bei Verwendung mehrerer am Durchflußkanal angeordneter Biosensoren kann es notwendig sein, daß für jeden Biosensor eine andere Standardlösung zur Kalibrierung benutzt werden muß, so daß die Biosensoren einzeln und nacheinander zu kalibrieren sind. Nach jeder Kalibrierung ist ein Reinigungsvorgang, wie oben beschrieben, zur Herstellung der Meßbereitschaft der Durchflußmeßanordnung erforderlich.

Erfundengemäß ist die Durchflußmeßanordnung in einem Handgerät untergebracht, welches ortsunabhängig und unabhängig vom Stromnetz ist. Mit der Anordnung der Durchflußmeßanordnung in einem Handgerät sind unmittelbare Vorortmessungen möglich, z. B. für den Einsatz in fahrbaren Gesundheits-, medizinischen oder Umweltlabors zur Untersuchung von Körperflüssigkeiten des Menschen, von Wasserproben, von Abwässern usw. sowie durch die einfache Handhabung ist das Handgerät auch für den allgemeinen Gebrauch, z. B. für Zuckerkranke, geeignet. Vorzugsweise besitzt das Handgerät Taschenbuchformat und wird batteriegespeist. Zum An- und Absaugen der verschiedenen Flüssigkeiten und Luft in die bzw. aus der Durchflußmeßanordnung ist eine von einem Gleichstrommotor angetriebene Pumpe im Handgerät vorhanden. Verbrauchte Flüssigkeiten aus der Durchflußmeßanordnung werden über eine Absaugöffnung im Handgerät in einen außerhalb des Handgerätes befindlichen Abfallbehälter geleitet.

Mit der Durchflußmeßanordnung sind weiterhin eine im Handgerät angeordnete Anzeige und eine Tastatur verbunden. Die Anzeige dient der Information für den Bediener über den Zustand der Durchflußmeßanordnung, über Bedienvorgänge, über Meßfehler und über den Meßwert sowie der Unterstützung des Bedieners bei der Durchführung der Analyse. Die Tastatur besitzt handbetätigte Schalter zum Einschalten der Durchflußmeßanordnung und zur Auslösung des Kalibrierorganges.

Gemäß Fig. 1 dient eine auswechselbare Meßprobenkanüle 7 mit der Meßflüssigkeit 3 der Zuführung der Meßflüssigkeit 3 in die Durchflußmeßanordnung, wobei die Meßprobenkanüle 7 durch ein Führungsstück 12 in einer Meßstellung gehalten wird. Gemäß Fig. 3 weist eine Sensoreinheit als Bestandteil der erfundengemäß Durchflußmeßanordnung vorteilhafterweise ein aufklappbares Verschlußteil 6, einen Ansaugkanal 10 und einen im Verschlußteil 6 angeordneten Zuführkanal 8 auf, wobei der Ansaugkanal 10 mit dem Durchflußkanal 1 verbunden ist. Weiterhin ist ein aufklappbares Oberteil 4 und ein damit verbundenes Unterteil 5 vorhanden. Der Durchflußkanal 1 befindet sich im Oberteil 4 und der Biosensor 2 ist im Unterteil 5 befestigt, wobei er mit seinem Kopf bis in den Durchflußkanal 1 hineinragt. Durch Aufklappen des Oberteils 4 der Sensoreinheit kann die über dem Kopf des Biosensors 2 gespannte Biomembran ausgewechselt werden.

Zur Messung der Umgebungstemperatur weist die Durchflußmeßanordnung einen im Handgerät untergebrachten nicht näher dargestellten Temperatursensor auf.

In Fig. 2a bis 2c ist der Durchflußkanal 1 mit dem Kopf des Biosensors 2 in vergrößerter Darstellung und

in drei Ansichten dargestellt. Fig. 2a bis 2c zeigen den Biosensor 2, welcher senkrecht durch ein die Wand des Durchflußkanals 1 durchbrechendes Langloch 9 in den Durchflußkanal 1 hineinragt. Die Funktionsweise der erfundungsgemäßen Durchflußmeßanordnung soll anhand von Fig. 1, 2a bis 2c und 3 erläutert werden. Ein im Handgerät befindlicher Mikrorechner überwacht und steuert alle automatischen bzw. selbsttätig ablaufenden Funktionen der Durchflußmeßanordnung.

Befindet sich die Durchflußmeßanordnung im Ruhezustand wird dieser durch Betätigung eines Schalters beendet und die Meßbereitschaft der Durchflußmeßanordnung durch einen Reinigungsvorgang nach eventueller Kalibrierung des Biosensors 2, wie oben im Verfahren beschrieben, hergestellt. Aber die Anzeige im Handgerät erhält der Bediener eine Information, sobald die Meßbereitschaft hergestellt ist.

Zum sparsamen Energieverbrauch kann sich die Durchflußmeßanordnung nach Ablauf einer festgelegten Zeit nach dem Erreichen der Meßbereitschaft, z. B. 30 Sekunden, selbsttätig abschalten und erneut den Ruhezustand einnehmen, sofern kein neuer Zyklus innerhalb dieses Zeitraums begonnen wurde.

Im Zustand der Meßbereitschaft wird durch Aufklappen des Verschlußteils 6 eine Öffnung zum Ansaugkanal 10 zur Aufnahme der auswechselbaren Meßprobenkanüle 7 mit der Meßflüssigkeit 3 freigegeben und damit gleichzeitig der Beginn eines neuen Zyklus bestimmt. Gleichzeitig beginnt die Pumpe innerhalb der Durchflußmeßanordnung zu arbeiten und die im Durchflußkanal 1 befindliche Reinigungs- und/oder Pufferlösung wird abgesaugt und Luft durch die Öffnung zum Ansaugkanal 10 in den Durchflußkanal 1 angesaugt. Jetzt kann die Meßprobenkanüle 7 mit der Meßflüssigkeit 3 durch den Bediener manuell in eine Meßstellung gebracht werden. Das untere Ende der Meßprobenkanüle 7 befindet sich dabei in der als kugelförmige Vertiefung ausgebildeten Öffnung des Ansaugkanals 10. Da sich am unteren Ende der Meßprobenkanüle 7 nach der Aufnahme der Meßflüssigkeit 3 mittels Kapillarwirkung stets ein Tropfen bildet, wird die Öffnung des Ansaugkanals 10 durch die Meßflüssigkeit 3 sofort verschlossen und abgedichtet. Durch Ankippen der Meßprobenkanüle 7 gegen ein Führungsstück 12 gelangt die Meßprobenkanüle 7 in die Meßstellung und wird darin gehalten. In der Meßprobenkanüle 7 befindet sich maximal ein Tropfen Meßflüssigkeit 3, vorzugsweise eine Menge von 10 bis 20 μ l. Durch die vom Gleichstrommotor betriebene Pumpe wird die Meßflüssigkeit 3 aus der in Meßstellung befindlichen Meßprobenkanüle 7 mit konstanter Fließgeschwindigkeit durch den Ansaugkanal 10 in den sich anschließenden Durchflußkanal 1 angesaugt, so daß bei der Messung im Durchflußkanal 1 stets gleichbleibende Fließbedingungen in jedem Zyklus bestehen. Zur weiteren Gewährleistung gleichbleibender Fließbedingungen im Durchflußkanal 1 besitzt dieser vorteilhafterweise einen zylindrischen Querschnitt und verläuft im Wesentlichen geradlinig sowie in den Abschnitten mit Biosensor 2 im rechten Winkel zur Längsachse des jeweiligen Biosensors 2. Dadurch werden Verwirbelungen der Meßflüssigkeit 3 beim Passieren des Biosensors 2 und Stauräume in der Umgebung des Biosensors 2 innerhalb des Durchflußkanals 1 nahezu ausgeschlossen, so daß auch über dem Kopf des Biosensors 2 mit der darübergespannten Biomembran, welche auf den zu bestimmenden Bestandteil der Meßflüssigkeit 3 reagiert, konstante Fließbedingungen herrschen. Der ermittelte Meßwert wird mittels eines Wandlers in

eine für den Mikrorechner verarbeitbare Form gebracht und an diesen weitergegeben.

Gemäß der in Fig. 2a gezeigten Ansicht eines vergrößerten Längsschnittes durch den Durchflußkanal 1 und den daran angeordneten Biosensor 2, der in Fig. 2c gezeigten Ansicht eines vergrößerten Längsschnittes durch den Durchflußkanal 1 quer zur Längsachse des Biosensors 2 und der in Fig. 2b gezeigten Ansicht eines vergrößerten Querschnittes durch den Durchflußkanal 1 entlang der Längsachse des Biosensors 2 ragt der Kopf des Biosensors 2 mit einer Höhe A in den Durchflußkanal 1 durch das Langloch 9 hinein. In Fig. 2c ist im Langloch 9 eine Draufsicht auf den Kopf des Biosensors 2 mit der Meßelektrode im Zentrum, einer diese umgebenden Bezugselektrode und einer dazwischenliegenden Isolierschicht zu sehen. Als Biosensor 2 ist z. B. der in der DE-Patentanmeldung P 41 15 795.8 beschriebene Biosensor geeignet. Die geometrische Form des Langloches 9 ist vorteilhafterweise der geometrischen Form des Kopfes des Biosensors 2 derart angepaßt, daß der Kopf des Biosensors 2 tangential unter einem bestimmten Winkel α an der Langlochöffnung anliegt. Vorzugsweise betragen die Höhe A ein Viertel bis die Hälfte des Durchmessers des Durchflußkanals 1 und der Winkel α ca. 100° bei einem Größenverhältnis zwischen Durchmesser des Durchflußkanals 1 und Durchmesser des Biosensors 2 von ca. 1 : 3. Das bewirkt einerseits eine vollständige Abdichtung der Langlochöffnung im Durchflußkanal 1 durch den Kopf des Biosensors 2, so daß keine zusätzlichen Dichtungsmittel erforderlich sind, und andererseits ein glattes Anliegen der über den Kopf des Biosensors 2 gespannten Biomembran am Langloch 9, so daß die mechanisch empfindliche Biomembran beim Wechsel und Anbringen des Biosensors 2 am Durchflußkanal 1 nicht beschädigt werden kann. Die beschriebene Anordnung des Kopfes des Biosensors 2 am und innerhalb des Durchflußkanals 1 bewirkt weiterhin die genannten konstanten Fließbedingungen bei der Messung im Durchflußkanal 1 mit und sichert somit eine hohe Reproduzierbarkeit des Meßwertes.

Nach Erhalt des Meßwertes müssen der Ansaugkanal 10 und der Durchflußkanal 1 von Rückständen der Meßflüssigkeit 3 gereinigt werden. Die Notwendigkeit des Reinigungsvorganges wird dem Bediener über die Anzeige mitgeteilt. Nach Entnahme der Meßprobenkanüle 7 und Verschließen der Öffnung zum Ansaugkanal 10 mittels des Verschlußteils 6 ist der Zuführkanal 8 für die Reinigungs- und/oder Pufferlösung mit dem Ansaugkanal 10 verbunden und der selbsttätige Reinigungsvorgang beginnt. Der Behälter für die Reinigungs- und/oder Pufferlösung ist vorzugsweise im Handgerät auswechselbar integriert. Nach Ende des Reinigungsvorganges und im Zustand der Meßbereitschaft sowie im Ruhezustand bleibt der Durchflußkanal 1 vollständig mit Reinigungs- und/oder Pufferlösung ausgefüllt.

Während des Arbeitens des Gleichstrommotors zum Antrieb der Pumpe ist entweder die Öffnung zum Ansaugkanal 10 freigegeben oder der Ansaugkanal 10 mit dem Zuführkanal 8 für die Reinigungs- und/oder Pufferlösung verbunden, so daß in der Durchflußmeßanordnung kein Unter- oder Überdruck entstehen kann. Durch das Ansaugen von Luft vor und nach dem Ansaugen der Meßflüssigkeit 3 wird ein Vermischen der Meßflüssigkeit 3 mit der Reinigungs- und/oder Pufferlösung vermieden.

Eine Taste auf der Tastatur dient der Auslösung des Kalibriervorganges, wozu das Verschlußteil 6 aufgeklappt wird und die Standardlösung aus einem Kapillar-

röhren, welches manuell in die Durchflußmeßanordnung ebenso wie die Meßprobenkanüle 7 eingeführt wurde, selbsttätig in den Durchflußkanal 1 angesaugt wird.

Bei erstmaliger Inbetriebnahme oder nach einem Wechsel der Biomembran gelangt die Durchflußmeßanordnung automatisch in den Ruhezustand, um einen jeweils einmaligen Einlaufvorgang des Biosensors 2 zu ermöglichen.

Über die Anzeige im Handgerät kann der Bediener über die im einzelnen durchzuführenden Schritte für die Kalibrierung oder für den Wechsel der Biomembran informiert werden.

Die Anwendbarkeit des erfindungsgemäßen Verfahrens und der Durchflußmeßanordnung ist nicht auf die Analyse von Vollblut oder Körperflüssigkeiten beschränkt, sondern ist für alle Arten von Flüssigkeiten geeignet. Je nach Art des Biosensors und des dafür verwendeten biologischen Materials lassen sich alle Bestandteile der jeweiligen Flüssigkeit bestimmen, die auf ein entsprechendes biologisches Material ansprechen bzw. damit in Reaktion treten.

Patentansprüche

1. Halbautomatisches Verfahren zur Analyse von Flüssigkeiten mittels einer Durchflußmeßanordnung, wobei die zu analysierende Meßflüssigkeit, Luft und eine Reinigungs- und/oder Pufferlösung einen Durchflußkanal in einer festgelegten Reihenfolge und in einem ständig wiederholbaren Zyklus durchfließen und am Durchflußkanal mindestens ein Biosensor angeordnet ist, dadurch gekennzeichnet, daß im Zustand der Meßbereitschaft der Durchflußmeßanordnung die im Durchflußkanal befindliche Reinigungs- und/oder Pufferlösung selbsttätig abgesaugt und gleichzeitig Luft sowie nachfolgend die Meßflüssigkeit wiederum gefolgt von Luft selbsttätig in den Durchflußkanal angesaugt werden, wobei die Meßflüssigkeit den bzw. die Biosensoren mit in jedem Zyklus konstanter Fließgeschwindigkeit passiert und dabei der bzw. die Bestandteile der Meßflüssigkeit bestimmt werden, daß die Meßflüssigkeit zu einem beliebigen Zeitpunkt nach Beginn des Absaugens der im Durchflußkanal befindlichen Reinigungs- und/oder Pufferlösung und des gleichzeitigen Ansaugens von Luft der Durchflußmeßanordnung manuell zugeführt wird und daß nach Erhalt des Meßergebnisses bzw. der Meßergebnisse die Meßbereitschaft der Durchflußmeßanordnung wieder hergestellt wird, indem der Durchflußkanal und alle anderen von der Meßflüssigkeit durchflossenen Kanäle innerhalb der Durchflußmeßanordnung mittels der Reinigungs- und/oder Pufferlösung solange selbsttätig gereinigt werden, bis der Strom des Biosensors bzw. der Biosensoren einen jeweils vorgegebenen Stromwert erreicht hat.
2. Halbautomatisches Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß vor dem Beginn jedes Zyklus in Abhängigkeit von den Umgebungsbedingungen oder der vergangenen Zeit seit der vorhergehenden Kalibrierung eine Kalibrierung des bzw. der Biosensoren mittels einer; bzw. mehrerer Standardlösungen erfolgt.
3. Halbautomatisches Verfahren nach einem der

Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die beidseitig durch Luft begrenzte Meßflüssigkeit beim Durchfließen des Durchflußkanals einen Teilabschnitt des Durchflußkanals ausfüllt und dabei ein oder mehrerer Bestandteile der Meßflüssigkeit durch den Biosensor bzw. nacheinander durch die Biosensoren bestimmt werden.

4. Halbautomatisches Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß in jedem Zyklus, bevor die Meßflüssigkeit den bzw. die Biosensoren passiert, die Umgebungstemperatur gemessen und die Stromverstärkung am Biosensor bzw. an den Biosensoren dementsprechend und gemäß der bekannten Abhängigkeit des Meßergebnisses von der Temperatur der Meßflüssigkeit eingestellt wird.

5. Halbautomatisches Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß zur Bestimmung des bzw. der Bestandteile der Meßflüssigkeit der Strom des bzw. der Biosensoren differentiell gemessen und daraus unter Verwendung der bekannten Strom-Zeit-Funktion des jeweiligen Biosensors der steilste Anstieg des Stroms sowie der Maximalwert am Wendepunkt der abgeleiteten Strom-Zeit-Funktion des jeweiligen Biosensors ermittelt werden, wobei der ermittelte Maximalwert gleichzeitig der Meßwert ist.

6. Durchflußmeßanordnung zur Analyse von Flüssigkeiten, wobei die zu analysierende Meßflüssigkeit, Luft und eine Reinigungs- und/oder Pufferlösung einen Durchflußkanal in einer festgelegten Reihenfolge und in einem ständig wiederholbaren Zyklus durchfließen und am Durchflußkanal mindestens ein Biosensor angeordnet ist, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchflußmeßanordnung innerhalb eines Handgerätes angeordnet ist.

7. Durchflußmeßanordnung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß im Handgerät ein Temperatursensor zur Messung der Umgebungstemperatur angeordnet ist.

8. Durchflußmeßanordnung nach einem der Ansprüche 6 oder 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchflußmeßanordnung eine Sensoreinheit mit einem aufklappbarem Verschlußteil (6), einem Ansaugkanal (10) und einem im Verschlußteil (6) angeordneten Zuführkanal (8) aufweist, wobei der Ansaugkanal (10) mit dem Durchflußkanal (1) verbunden ist.

9. Durchflußmeßanordnung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß im aufgeklappten Zustand des Verschlußteils (6) in einer Öffnung zum Ansaugkanal (10) eine auswechselbare Meßprobenkanüle (7) mit der Meßflüssigkeit (3) aufnehmbar ist.

10. Durchflußmeßanordnung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß im geschlossenen Zustand des Verschlußteils (6) der Ansaugkanal (10) mit dem Zuführkanal (8) für die Reinigungs- und/oder Pufferlösung verbunden ist.

11. Durchflußmeßanordnung nach einem der Ansprüche 6 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß ein Teil des Kopfes des jeweiligen Biosensors (2) senkrecht durch ein die Wand des Durchflußkanals (1) durchbrechendes Langloch (9) in den Durchflußkanal (1) hineinragt.

12. Durchflußmeßanordnung nach einem der Ansprüche 6 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß der Durchflußkanal (1) im Wesentlichen geradlinig ver-

läuft und zumindest in den Abschnitten mit Biosensor (2) im rechten Winkel zur Längsachse des jeweiligen Biosensors (2) angeordnet ist.

Hierzu 4 Seite(n) Zeichnungen

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

- Leerseite -

*

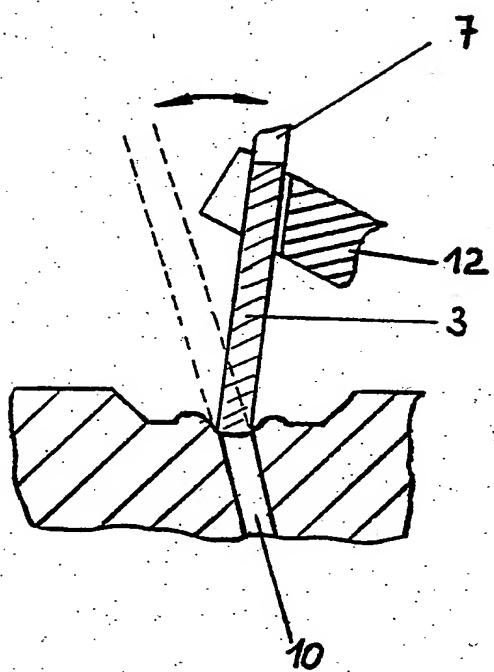


Fig.1

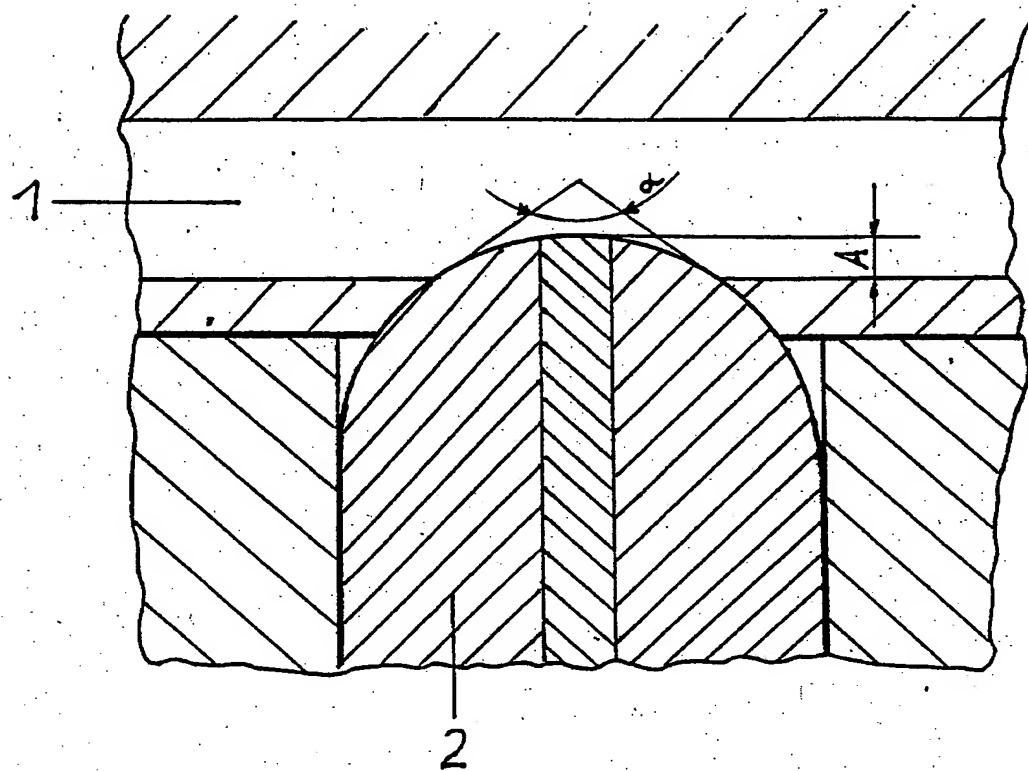


Fig. 2a

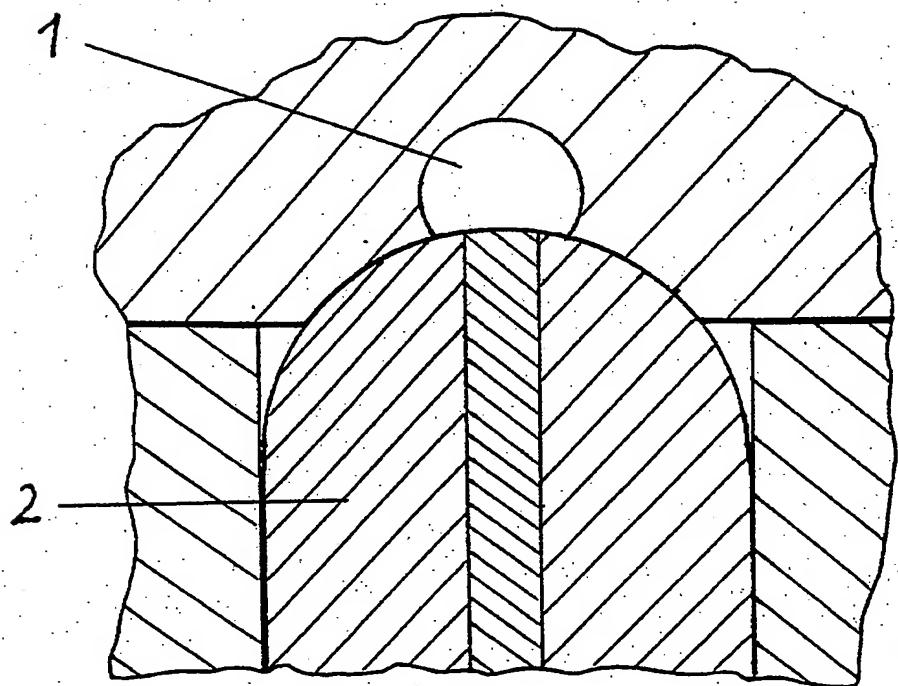


Fig. 2b

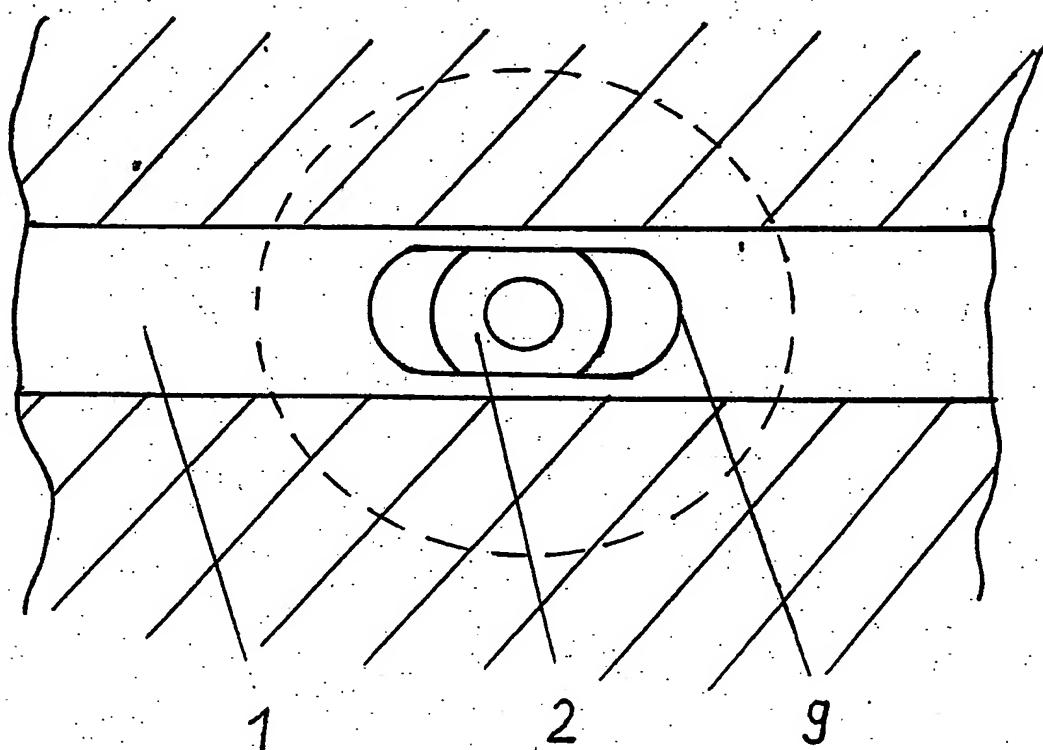


Fig. 2c

Fig. 3

